

"ANALYSE DE CERTAINES FONCTIONS DES LYMPHOCYTES T PROVENANT DU SANG MATERNEL A L'ACCOUCHEMENT ET DU SANG DU CORDON"

THESE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine —

par

Isabelle JEANNERET
—

de

LE LOCLE (Neuchâtel)

Thèse No 3605

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène
1977
—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545929_0037

UNIVERSITE DE GENEVE
Département de médecine
Division d'immunologie et d'allergologie

FACULTE DE MEDECINE
Professeur A. CRUCHAUD
Docteur J.-P. GIRARD, C.C.

**"ANALYSE DE CERTAINES FONCTIONS
DES LYMPHOCYTES T PROVENANT
DU SANG MATERNEL A L'ACCOUCHEMENT
ET DU SANG DU CORDON"**

THESE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par

Isabelle JEANNERET

de

LE LOCLE (Neuchâtel)

Thèse No 3605

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène
1977

La Faculté de médecine, sur le préavis du professeur André Cruchaud, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 5 juillet 1977

Le doyen :
Marcel Jenny

Thèse No 3605



Toute ma gratitude va au docteur J.-P. Girard, chargé de cours, qui m'a suggéré et guidé la réalisation de ce travail.

Je remercie le professeur F. Béguin, Clinique universitaire de gynécologie et d'obstétrique, de l'intérêt qu'il a manifesté pour cette recherche.

Tous mes remerciements vont aux sages-femmes de la salle d'accouchement qui ont permis par leur gentillesse de faire les prélèvements de sang dans les meilleures conditions.

Sans l'aide technique de madame S. Fleury et du docteur M. Cuevas, ce travail n'aurait pas pu être mené à bien . Je les remercie ici très vivement.

L'état immunitaire normal du nouveau-né ou, au contraire, ses déficiences immunitaires sont l'expression du développement des systèmes et fonctions immunologiques pendant la vie intra-utérine. Ce développement s'effectue normalement en l'absence de stimulation antigénique.

En fait, l'état immunitaire à la naissance est le résultat d'interactions complexes materno-foetales encore mal connues. De même, les potentialités réactionnelles du nouveau-né dépendent non seulement de ses potentialités immunologiques propres, mais encore de l'interférence des anticorps maternels transmis par le placenta. Toutefois, comme l'indique le tableau I, de nombreuses infections menacent le développement de la vie foetale et ceci dès la dixième semaine de gestation (1). Ce sont surtout différents virus qui menacent le début de la vie intra-utérine; toutefois, la malaria et la syphilis peuvent très tôt se développer chez le fœtus. En plus des facteurs liés à l'interrelation mère-fœtus, des lésions de vasculites placentaires et, d'une manière générale, la présence d'une chorio-amnionite sont des facteurs nettement prédisposants.

Toutefois, comme l'indique le tableau II, de nombreux facteurs exogènes et endogènes permettent d'expliquer la rupture de protection de l'enveloppe foetale, qu'il s'agisse de problèmes se développant durant la gestation ou immédiatement après la naissance (2).

MATURATION IMMUNOLOGIQUE

La maturation immunologique est un processus qui débute très tôt dans la vie foetale et se poursuit d'une manière ininterrompue jusqu'à la fin de l'enfance (3). Dès les sixième et huitième semaines de la gestation, des petits lymphocytes font leur apparition dans la circulation. Vers la douzième semaine, il y a déjà environ

1 000 lymphocytes par mm^3 et ce chiffre approche de 10 000 vers la seizième semaine. A ce stade, une production d'interferon est déjà présente.

Le thymus foetal est dérivé des seconde et troisième poches branchiales. Dès la huitième semaine de la gestation, celui-ci se différencie en zones corticale et médullaire. Dès ces moments, des lymphocytes T sont déjà présents. Le développement pondéral de cet organe est rapide. Il atteint 4 000 mg à la vingt-sixième semaine. Toutefois, c'est à la naissance que le rapport poids du thymus/poids du corps est à son maximum. Ce développement se poursuit jusqu'à la puberté, quoique plus lentement, et commencera alors son involution (4).

ORGANES LYMPHOÏDES SECONDAIRES

La rate, d'origine mésoblastique, s'individualise par une structure réticulaire dès la sixième semaine, mais ce n'est que vers la quinzième semaine qu'apparaissent des lymphocytes autour des artères centro-lobulaires (5). Les ganglions lymphatiques commencent à se former à la fin du deuxième mois à partir de proliférations mésenchymateuses ayant fait intrusion dans la lumière des vaisseaux lymphatiques. Ils sont habités par des lymphocytes entre les septante et cent-vingtième jours (6). Toutefois, ce n'est qu'après la naissance que dans les centres germinatifs, des plasmocytes sont présents. Au niveau du tube digestif, les premiers lymphocytes apparaissent dans la lamina propria, ceci de la huitième à la dix-huitième semaine. Ce n'est que vers le cinquième mois qu'ils se constituent en plaques de Peyer.

L'organogenèse du système immunologique ne serait pas indépendante de l'état immunologique de l'organisme maternel. Selon Turcas et coll. (7), le foetus présente une involution thymique avec

hypertrophie relative des organes lymphoïdes périphériques, en cas de cancer du col utérin, de leucémie ou d'autre affection maternelle. De telles agressions maternelles devraient être prises en considération dans l'étiopathologie d'aplasies thymiques congénitales.

ORIGINE DES CELLULES IMMUNO-COMPETENTES

Très tôt apparaissent ces cellules souches hématopoïétiques qui sont les précurseurs des différentes lignées sanguines. Elles colonisent la rate et le foie foetaux (8), puis après la naissance, la moelle osseuse. Toutefois, dès la douzième semaine, la moelle osseuse contient déjà 25 % de lymphocytes atteignant un maximum d'activité vers la trentième semaine (9). Les lymphocytes se rendant dans le thymus y acquièrent les propriétés des lymphocytes T, c'est-à-dire immunité cellulaire, hypersensibilité retardée, rejet de greffes. Cette différenciation est mal connue, il est toutefois possible qu'un facteur thymique humoral (thymosine) joue un rôle. Cette différenciation se fait en l'absence de toute stimulation antigénique (10). La colonisation des organes lymphoïdes périphériques par les lymphocytes T se fait dès les cinquième et sixième mois. Ces lymphocytes sont très rapidement fonctionnels. Dès la cinquième semaine, les cellules lymphoïdes hépatiques répondent en culture lymphocytaire mixte (11) et dès la huitième semaine, ils répondent à la stimulation par phytohémagglutinine (12). Chez l'homme, Kay (13) a rapporté des réactions de greffe contre hôte d'un thymus foetal de seize semaines greffé chez un enfant. La formation des rosettes-E avec les érythrocytes de mouton apparaît dès la onzième semaine dans le thymus et jusqu'à la dix-huitième semaine, leur nombre croît régulièrement (14).

Il semble, d'après ces résultats, que la première réponse possible soit une réponse allogénique au niveau du foie, bien avant d'apparaître au niveau du thymus. Ceci suggère que le thymus devient

immunocompétent vers la dixième et la onzième semaines et que la réponse allogénique dépend d'un contrôle hépatique pendant le développement (15).

On ignore encore si, chez le fœtus, la moelle osseuse est capable de fournir autre chose que des précurseurs de lymphocytes B aux organes lymphoïdes périphériques. Miller (16) est d'avis que la moelle fournit des lymphocytes B mûrs et que s'ils ne sont pas compétents, c'est probablement faute d'antigènes spécifiques.

Le tableau III indique la chronologie du développement des Ig de membranes des lymphocytes B. Déjà dès la neuvième semaine, des cellules porteuses d'IgM sont détectables dans le foie et la rate. L'apparition des Ig intracytoplasmiques est plus tardive, ceci vers la quatorzième semaine et dans l'ordre suivant : IgM, IgG et IgA.

Dès le quatrième mois de la gestation, les lymphocytes fœtaux passent dans le sang maternel (17). Ils peuvent constituer 0,1 - 0,5 % des lymphocytes du sang maternel. Ce fait rend compte de l'importance de l'inertie immunologique maternelle.

Comme l'indique le tableau III, la synthèse des immunoglobulines est précoce. Elle est mise en évidence par incorporation d'acides aminés marqués et autoradiographies de fragments de rate. Elle apparaît à 74 jours pour les IgM, à 84 jours pour les IgG et IgE (18). Cederquist trouve des IgA dans le serum fœtal dès le quatrième mois (19).

Enfin, c'est entre la dixième et la quatorzième semaine que les fragments C_3 , C_4 , C_5 et C_{1q} du complément sont retrouvés (20).

Notons que les antigènes A et B des groupes sanguins sont trouvés à 4 semaines au niveau des cellules endothéliales et à 12^e semaines dans tous les organes (21). Les antigènes H-LA sont présents

sur les cellules mononucléées dès la dixième semaine (22). Les antigènes d'histocompatibilité proviennent pour une moitié du père, et une moitié de la mère, le fœtus et son placenta sont donc une hœmi-allogreffe. On admet actuellement que l'immunisation de la mère aux antigènes H-LA fœtaux est la règle. Cette immunisation augmente avec le nombre des grossesses (23). Cependant, les accidents fœtaux liés à ces anticorps IgG anti-H-LA sont rares, 1 - 2/10 000 naissances. Il s'agit de thrombopœnies ou leucopœnies nœo-natales (24). L'explication de cette rareté d'accidents n'a pas encore été fournie. Certains auteurs l'ont expliqué par une diminution de réactivité des lymphocytes maternels à la PHA (25) ou par l'absence de réactions en CML avec les lymphocytes fœtaux (26). Toutefois, l'existence d'un ou plusieurs facteurs sériques inhibiteurs de la réactivité immunologique maternelle (27, 28) fournit une explication relativement satisfaisante à ce phénomène.

ETAT IMMUNITAIRE A LA NAISSANCE

L'apport immunologique maternel consiste essentiellement en IgG qui, seules, passent la barrière placentaire (29) dès la fin du premier trimestre de la gestation. A la naissance, leur concentration sérique est chez le nouveau-né légèrement supérieure à celle du sang maternel, soit : 944 ± 375 mg/100 ml (30). Les IgM ne passent qu'en cas d'inflammation placentaire.

Les immunoglobulines sériques propres au nouveau-né consistent essentiellement en IgM avec un taux moyen de $8,1 \pm 8,6$ mg/100 ml (31). Un taux supérieur à 16 mg/100 ml signe le plus souvent une infection prénatale. Les IgA, IgD et IgE ne sont présentes que dans un faible pourcentage de cas et à des taux très bas (32). Enfin, les IgA sont inexistantes, mais normalement apportées par le colostrum.

LES LYMPHOCYTES DU NOUVEAU-NE

Le nombre des lymphocytes des nouveau-nés est très élevé, de l'ordre de $4 - 6\,000/\text{mm}^3$. Toutefois, ils diffèrent de ceux des adultes par un certain nombre de propriétés. Morphologiquement, ils sont constitués par une large prédominance de lymphocytes larges et moyens. Leur synthèse spontanée d'ADN est supérieure à celle de l'adulte (33), traduisant un niveau basal de stimulation élevé. Comme l'a montré Weber et coll. (34), les lymphocytes foetaux ont une période G_1 minimum d'au moins 4 heures inférieure à celles des lymphocytes adultes (environ 24 h.). Enfin, un certain nombre des lymphocytes du cordon entrent immédiatement en période G (phase de synthèse d'ADN), ce qui ne se voit jamais chez l'adulte et traduit une préstimulation in vivo.

Comme l'ont montré plusieurs auteurs (35, 36), les lymphocytes de nouveau-né répondent à la stimulation de la PHA quoique plus faiblement que ceux de l'adulte; le lavage des cellules semble en augmenter la réponse (35).

Comme l'ont montré Campbell et coll. (37), la capacité de former des rosettes T est plus faible chez le nouveau-né que chez l'adulte avec, en plus, une augmentation notable des lymphocytes B.

Ces mêmes auteurs ont de même pu démontrer une très faible activité cytotoxique des lymphocytes du cordon, cytotoxicité liée aux anticorps et vraisemblablement propriété des cellules K. Selon Christiansen (38), la somme des lymphocytes T et B chez le nouveau-né est nettement inférieure à celle observée chez l'adulte. Selon ces auteurs, cette forte proportion de cellules "null" représente des précurseurs immatures. Ils notent enfin un pourcentage particulièrement bas de cellules B chez les mères.

Finalement, Eife et coll. (39) notent une capacité réduite des lymphocytes du cordon de susciter la formation de lymphokines. Toutefois, les facteurs techniques sont d'une grande importance pour apprécier objectivement la formation de ces facteurs lymphocytaires. Ceci est particulièrement évident dans le travail de Muller et coll. (36).

Il apparaît donc que les lymphocytes foetaux sont caractérisés d'une part par une certaine maturité, d'autre part par une activité métabolique accrue, et une activité spontanée nettement plus élevée que chez l'adulte. Chez l'adulte, une augmentation de l'activité basale correspond, dans la règle, à une stimulation antigénique, *in vivo*; on peut se demander s'il en est de même avec les lymphocytes foetaux. Ceci est d'autant plus vraisemblable que de nombreux antigènes solubles peuvent théoriquement traverser la barrière placentaire.

BUT DE LA PRESENTE INVESTIGATION

L'étude fonctionnelle des lymphocytes du nouveau-né a été entreprise par plusieurs auteurs. Toutefois, dans la majorité des cas, un seul ou un petit nombre de paramètres ont été analysés, rendant la synthèse des résultats parfois ardue.

L'objectif fixé par ce travail est l'étude d'une très large gamme de fonctions et propriétés des lymphocytes du nouveau-né et de la mère. Les investigations suivantes ont été pratiquées :

- étude du pourcentage des lymphocytes T et B chez la mère et l'enfant;
- analyse de la réponse *in vitro* aux mitogènes, phytohemagglutinine (PHA) et concanavalin-A (Con-A);
- étude de la réponse *in vitro* à différents antigènes thymo-

dépendants (Tuberculine, streptokinase-streptodornase, candida alb.) et aux lipopolysaccharides;

- étude de la production de lymphokines, facteur inhibiteur de la migration leucocytaire (MIF) et facteur mitogénique (MF) en présence de mitogènes;
- culture mixte lymphocytaire avec les couples mère-nouveau-né;
- étude de l'effet du serum de femme gravide sur la réponse aux mitogènes;
- dosage des immunoglobulines dans les sangs maternels et des nouveau-nés.

MATERIEL ET METHODE

Choix des patients : vingt parturientes ont été choisies à la clinique d'Obstétrique de l'Hôpital cantonal de Genève, selon les critères suivants : âge entre 20 - 30 ans, grossesse sans complications, accouchement à terme, et sans problèmes particuliers. Du sang du cordon (20 ml) a été prélevé dans un récipient stérile renfermant 800 u.i. d'héparine. Au même moment, un prélèvement de sang veineux a été fait chez la mère, soit 20 ml hépariné.

STIMULATION LYMPHOCYTAIRE

Une petite quantité de plasma (1 - 2 ml) a été prélevée après 10 - 20 minutes de sédimentation spontanée. Les lymphocytes ont été séparés sur un gradient de Ficoll-Isopaque (Pharmacia, Uppsala, Suède). Après trois lavages en milieu de Hanks (Difco lab., Detroit, USA), les cellules ont été comptées et mises en culture. Des microplaques (Falcon, Los Angeles, USA) sont utilisées pour la culture. Environ 3×10^5 cellules sont introduites dans chaque puits, renfermant un milieu de culture synthétique (TC 199, Difco) et 20 % de serum humain AB provenant d'un pool de donneurs. La

phytohemagglutinine, PHA-M (Difco Lab.) est ajoutée à raison de $10,0 \mu\text{g}/10^6$ cellules, la concavanaline A (Con-A, Calbiochem, Lucerne) à raison de $50 \mu\text{g}/10^6$ cellules, la tuberculine (Institut sérothérapique du Danemark, Copenhague) à raison de $10 \text{ u.i.}/10^6$ cellules, *Candida albicans* (Dome Lab., Lausanne) à raison de $100 \mu\text{l}$ d'une solution au 1/1 000, la streptokinase/streptodornase (Varidase, Lederle) à raison de $500 \text{ u.i.}/10^6$ cellules et les lipopolysaccharides (L.P.S. de *E. Coli*, Difco Lab.) à la concentration de $10,0 \mu\text{g}/10^6$ cellules.

Les microplaques sont recouvertes d'un film de polyéthylène adhérent et placées dans un incubateur à CO_2/air (Secfroid, Lausanne) réglé à 37°C pour 4 jours. Au quatrième jour, $0,5 \mu\text{Ci}$ de H^3 -thymidine (NEN, Dreieichenhain, Allemagne) est ajoutée à chaque puits, et, après une incubation supplémentaire de 16 heures, les cellules sont récoltées. La récolte est faite au moyen d'un appareil semi-automatique de récolte de culture (Skatron semi-automatic cell-harvester, Opopharma, Zürich). Les cellules sont fixées sur des disques de papier filtre qui sont placés dans des flacons de polyéthylène renfermant le liquide de scintillation.

L'activité spécifique des cellules est estimée dans un compteur à scintillation liquide Beckman. Toutes les cultures étant faites en triplicats, la valeur moyenne des résultats fournis par le compteur est utilisée. Avec la technique utilisée, toutes les valeurs qui dépassent de 50 % la valeur de base sont considérées comme significatives (40).

ISOLEMENT DES LYMPHOCYTES T ET B

La détermination quantitative des lymphocytes T se fait selon une technique décrite précédemment (41). Des érythrocytes de mouton sont lavés trois fois en milieu de Hanks et ajustés en suspension de 0,5 %. Un volume de $0,25 \text{ ml}$ de lymphomonocytes (10^6 cel-

lules) est mis en présence de 0,25 ml d'érythrocytes de mouton et incubé à 37°C pendant 10 minutes. La suspension cellulaire est agitée doucement et incubée pour trois heures à 4°C. Une goutte de la suspension cellulaire est étalée sur une lame de microscope et recouverte d'une lamelle. Un compte de 200 lymphocytes est alors fait et tous les lymphocytes ayant fixé plus de 3 érythrocytes sont considérés comme des cellules T.

Les lymphocytes porteurs d'Ig : à une quantité fixée de lymphocytes isolés sur Ficoll-Isopaque (0,25 ml ou 10^6 cellules) sont ajoutés 100 μ l d'un sérum de lapin anti-Ig humaine polyvalent (Institut Pasteur, Paris), dilué au 1/10. La suspension cellulaire est incubée pour 1 heure à 4°C et les cellules ensuite lavées 3 fois dans une solution de Hanks froide. Les cellules sont alors mises en présence de 50 μ l d'un serum de mouton anti-lapin fluorescent (Institut Pasteur, Paris). Après une nouvelle heure d'incubation, les cellules sont lavées 3 fois avec une solution de Hanks et étalées sur une lame de microscope. La fluorescence des membranes est examinée avec un microscope à fluorescence Wild. Environ 200 cellules sont comptées afin de déterminer le pourcentage des cellules B (42).

CULTURES MIXTES LYMPHOCYTAIRES

Des cultures sont établies sur microplaques, comprenant en quantité égale des lymphocytes maternels et des lymphocytes du cordon. Dans tous les cas, des cultures ont été faites avec des cellules provenant de donneurs non apparentés. Afin de déterminer le degré d'activité de la population stimulatrice, des lots de cellules lymphocytaires ont chaque fois été traités à la Mitomycine C (43).

L'activité MLC a été estimée par incorporation au quatrième jour de la culture de H^3 -thymidine (0,5 μ ci/culture). L'incorporation de thymidine tritiée a été appréciée comme décrit précédemment.

ETUDE DE LA FORMATION DES LYMPHOKINES

Deux lymphokines ont été étudiées, le facteur inhibiteur de la migration des leucocytes (LIF) et le facteur mitogénique (LMF). La production de ces deux facteurs a été étudiée au moyen de la technique décrite par Rocklin (44). Deux lots de 5×10^6 cellules sont mises en culture dans 5 ml de milieu TC 199, sans serum. Dans l'une des deux cultures est ajoutée 0,5 ml de Con-A-Sepharose (Pharmacia, Uppsala, Suède). Les deux cultures sont incubées pour 48 heures avec un changement de milieu TC 199 à 24 heures. Les deux volumes de surnageant sont poolés et utilisés pour la détermination des lymphokines.

La production de LIF est analysée au moyen d'une microtechnique décrite récemment (40). Cette détermination est faite en microplaque Falcon. Dans la suspension cellulaire, maintenue à 38°C est ajoutée de l'agarose (Calbiochem, Lucerne), préalablement chauffée à 40°C, à raison d'une concentration finale de 0,5 %. Cinq μ l de la suspension cellulaire leucocytaire (provenant d'un donneur sain), soit 5×10^5 cellules sont répartis dans chaque puits à l'aide d'une micropipette Hamilton. Le puits est alors rempli avec le surnageant de la culture lymphocytaire provenant soit du sang maternel soit du sang du cordon. Après une incubation de 24 heures à 37°C, le diamètre de l'aire de migration est apprécié au faible grossissement d'un microscope Wild, un vernier étant adapté à l'oculaire. Pour chaque test, 12 témoins sont pratiqués et la migration moyenne de ces témoins est considérée comme 100 %. L'inhibition de la migration est appréciée en fonction de cette valeur témoin.

Pour la détermination du facteur mitogénique, le surnageant des cultures faites en présence ou absence de Con-A est centrifugé à 800 g pendant 20 minutes. Une quantité de 200 μ l de ces surnageants est ajoutée à des cultures de lymphocytes provenant d'un donneur sain, ceci en présence de 20 % de serum AB et de milieu 199.

Après une incubation de 4 jours à 37°C, 0,5 μ Ci de H³-thymidine est ajoutée à chaque puits et après une incubation supplémentaire de 16 heures, les cultures sont récoltées comme indiqué précédemment. L'activité du facteur mitogénique est appréciée en cpm (44).

RESULTATS

La pratique de tests au moyen d'antigènes spécifiques de la réponse immune à médiation cellulaire est un moyen simple de mettre en évidence l'existence de cellules immunocompétentes. Ces tests peuvent se faire en administration intradermique ou en stimulation lymphocytaire.

STIMULATION ANTIGENIQUE IN VITRO

C'est pour des raisons évidentes que cette dernière technique a été retenue dans notre étude. Les résultats en sont présentés dans la figure 1. Celle-ci montre la réponse des cellules maternelles (M) et du cordon (B) à 3 antigènes thymo-dépendants et aux endotoxines de E. Coli. Les résultats sont exprimés par un point noir lorsque le rapport activité avec antigène/activité sans antigène est $\geq 1,5$. Lorsque ce rapport est inférieur, ils sont exprimés par un cercle ouvert. Dans ce cas, la stimulation antigénique est positive chez les mères, avec les 4 antigènes, alors qu'elle est présente dans 16 cas chez les nouveau-nés. A noter que l'intensité de la réponse est souvent beaucoup plus élevée chez les mères et que, d'autre part, elle est plus fréquemment positive, aussi bien chez les mères que chez les bébés, avec les 3 antigènes thymo-dépendants.

REPONSE AUX MITOGENES

La réponse des cellules maternelles et des bébés aux mitogènes Con-A et PHA est illustrée dans la figure 2. Pour la Con-A, la valeur moyenne chez les mères est de $81\,622 \pm 16\,257$ et chez les bébés de $28\,765 \pm 13\,797$. La différence est statistiquement hautement significative. Test F ($P = 0,05$) = 4,10, F calculé 122,8.

En ce qui concerne la PHA, la valeur moyenne est, pour les mères de $64\,696 \pm 15\,864$ et les bébés $25\,912 \pm 9\,290$. Ici également, la différence est hautement significative, test F ($P = 0,05$) = 4,10, F calculé = 89,2.

A noter enfin que la réponse dans les deux collectifs est légèrement plus élevée pour la Con-A.

POURCENTAGE DES LYMPHOCYTES T ET B

Les résultats sont illustrés dans la figure 3. Les populations lymphocytaires des mères et des nouveau-nés sont comparées à celle d'un groupe de témoins en bonne santé, mâles et femelles, d'âges variant de 18 à 36 ans.

La valeur moyenne des lymphocytes T des mères est de $60 \pm 11,2$. Elle ne diffère pas statistiquement de celle observée dans le groupe contrôle ($62,1 \pm 7,6$). La valeur moyenne des lymphocytes B des mères est $17,4 \pm 3,8$, valeur qui, en revanche, est statistiquement différente de celle des contrôles ($25,3 \pm 4,6$) test F ($P = 0,05$) = 4,15, F calculé = 30,1.

Lorsque les valeurs moyennes des lymphocytes T des bébés ($35,9 \pm 7,8$) sont comparées à celles du groupe contrôle ($62,1 \pm 7,6$), la différence est hautement significative, test F ($P = 0,05$) = 4,15,

F calculé = 109,3. En revanche, lorsque les valeurs moyennes des lymphocytes B des bébés ($19,0 \pm 5,9$) sont comparées à celles des contrôles ($25,3 \pm 4,6$), la différence est à la limite de la signification statistique (F calculé = 12,4).

PRODUCTION DE LYMPHOKINES

La capacité de production du facteur inhibiteur des leucocytes est indiquée dans la figure 4, par référence à celle reconnue dans le groupe témoin mentionnée précédemment. La valeur moyenne pour la mère est de $68,4 \pm 14$ (% de migration par rapport aux résultats observés en l'absence de lymphokines), elle est de $62,2 \pm 11,9$ dans le groupe contrôle. Il n'y a pas de différence significative statistiquement entre ces deux groupes de résultats ($F(P = 0,05) = 4,10$, F calculé = 3,6). En revanche, il existe une légère différence entre les résultats observés chez les bébés (moyenne $73,3 \pm 13,7$) et les témoins ($62,2 \pm 11,9$), le test F calculé étant de 7,3.

La capacité de production du facteur mitogénique leucocytaire est illustrée dans la figure 5. La valeur moyenne pour les cellules maternelles est de $3\,279 \pm 1\,976$ (cpm) et celle des témoins de $8\,448 \pm 2\,482$. La différence entre les deux groupes de résultats est hautement significative statistiquement ($F(P = 0,05) = 4,10$, F calculé = 59,5). La valeur moyenne pour les cellules des bébés est de $5\,986 \pm 2\,026$, elle diffère statistiquement d'une manière significative de celle observée chez les témoins ($F(P = 0,05) = 4,10$, F calculé = 11,8).

CULTURE MIXTE LYMPHOCYTAIRE

Les résultats de cette analyse sont représentés dans le tableau IV. Ils sont indiqués en coups par minute (cpm).

La culture mixte mère bébé est chaque fois comparée à son homologue, l'une des populations étant traitée avec la Mitomycine C (m). L'activité moyenne des cultures couplées M + B est de $3\ 110 \pm 1\ 107$, celle des couples $M_m + B$ de $2\ 166 \pm 657$. La différence entre ces deux groupes de résultats est à la limite de la signification statistique ($F (P = 0,05) = 4,41$, F calculé = 5,3). En revanche, la comparaison M + B et son homologue M + B_m (moyenne 282 ± 74) fournit une différence hautement significative statistiquement ($F (P = 0,05) = 4,41$, F calculé = 64,9). Comme l'indique le tableau, les cultures mixtes, mère ou bébé et donneur non apparenté fournissent des résultats d'un ordre de grandeur comparable. Il n'y a pas de différence significative entre ces deux groupes de résultats.

EFFET DE SERA DES MERES ET NOUVEAU-NES SUR LA REPOSE A LA PHA DE LYMPHOCYTES PROVENANT DE DONNEURS NORMAUX

Ces résultats sont illustrés dans la figure 6. Ils sont exprimés en cpm.

La valeur moyenne pour les cellules cultivées en présence de serum maternel est de $42\ 048 \pm 20\ 473$. Celle-ci est de $67\ 729 \pm 17\ 491$ pour les groupes témoins (culture en présence de serum AB). La différence entre les deux groupes est hautement significative statistiquement ($F (P = 0,05) = 4,10$, F calculé = 18,1). La valeur moyenne pour les cultures faites en présence du serum de bébé est de $70\ 640 \pm 22\ 430$. Il n'y a pas de différence significative entre ce résultat et celui obtenu avec les cultures témoins (F calculé = 0,18).

DISCUSSION

Cette étude porte sur certains aspects de la capacité immunitaire du nouveau-né et des mères au moment de l'accouchement. Les résultats obtenus confirment ou contredisent certaines données déjà connues et apportent quelques éléments nouveaux à la connaissance de ce problème. De nombreux travaux démontrent que le fœtus, dans la dernière partie de sa vie intra-utérine, est capable de développer une réponse immunitaire. En cas d'infection congénitale, le stimulus antigénique entraîne l'apparition de centres germinatifs avec présence de plasmocytes, ceci est un critère pathognomonique. Cette réponse est possible dès la vingtième semaine dans le cas de la syphilis congénitale (28). Les études faites dans le cas de la rubéole (40) ou de la toxoplasmose (45) mettent en évidence d'autre part l'existence d'une immunisation humorale primaire inefficace et d'un possible retentissement sur les fonctions immunitaires post-natales, fournissant par exemple une explication à la dépression de l'immunité cellulaire observée dans ces cas (24).

Comment expliquer à la lumière de ces observations, la fréquence relativement élevée de cellules immunocompétentes, chez des nouveau-nés, aux antigènes que nous avons testés ? Muller et coll. (36) avaient déjà noté qu'une proportion importante de lymphocytes fœtaux répondaient au stimulus antigénique de la tuberculine. Nous avons étendu cette observation à d'autres antigènes d'origine bactérienne ou mycosique. Field et Caspary (46) ont montré que la réponse à médiation cellulaire pouvait être induite chez le fœtus par passage soit de lymphocytes maternels, soit de facteurs solubles à travers la barrière placentaire. Barnetson et coll. (47) ont testé les bébés de 10 mères immunisées contre *Mycobacterium leprae*. Dans tous les cas, la sensibilisation était retrouvée chez les nouveau-nés. Ils expliquent cette observation par le passage transplacentaire d'un facteur soluble T-dépendant, capable de transmettre le message antigénique aux lymphocytes fœtaux. Dans notre étude, cette sensibilisation dans le sens mère-fœtus n'a été observée que dans

la moitié à peu près des cas où la réponse maternelle était positive, sans qu'il nous soit possible de fournir une explication à cette discordance.

D'autres explications sont à considérer. Tout d'abord le passage transplacentaire de l'antigène doit être envisagé. Il s'agissait dans notre cas de larges molécules, protéiques ou glycoprotéiques. Or il est probable que le filtre immunologique du placenta est à même de retenir et de bloquer sur place ces antigènes. Si cela n'était pas le cas, le fœtus serait inondé d'antigènes variés et ceci, très tôt au cours du développement. Un autre argument contre cette hypothèse est que les mères étudiées n'étaient pas porteuses des maladies que peuvent engendrer le bacille de Koch, le streptocoque et *Candida albicans*, donc guère de moyens d'expliquer la présence d'antigènes en circulation. Une autre hypothèse, déjà évoquée précédemment (10) est le passage de lymphocytes fœtaux dans la circulation maternelle. De toute manière, ceux-ci sont en très petits nombres et s'ils étaient suffisamment mûrs immunologiquement pour acquérir les compétences observées chez la mère, ils devraient être systématiquement sensibilisés à tous les antigènes reconnus chez la mère, ce qui n'est pas le cas. Reste donc le passage transplacentaire d'un facteur soluble T-dépendant, comme l'explication la plus satisfaisante. Parmi les nombreux candidats possibles, il faut retenir le facteur de transfert dont le poids moléculaire est faible et qui est résistant aux enzymes protéolytiques (48).

Bien que le nouveau-né soit très richement pourvu en lymphocytes, la capacité fonctionnelle de ses cellules est différente de celle des lymphocytes adultes, comme l'ont montré Weber et coll. (34). La réponse lymphocytaire, *in vitro*, aux mitogènes, fournit une indication de leur capacité fonctionnelle. Les lymphocytes maternels prélevés au moment de l'accouchement sont stimulables par la Con-A et la PHA au même titre que des lymphocytes témoins. Ce résultat confirme les observations de Thiede et coll. (49) et de Yu et coll.

(35). La réponse diminuée aux mitogènes, notée par d'autres auteurs (43, 50), pourrait s'expliquer par la présence d'un facteur bloquant sérique, écarté par le lavage de la population cellulaire (38). En revanche, les lymphocytes du cordon répondent nettement moins que les groupes témoins à l'effet mitogénique de la PHA et Con-A et ceci après plusieurs lavages. Ces résultats sont un peu surprenants et en contradiction avec les observations de Yu et coll. (35). Une explication à ce phénomène est peut-être fournie par les résultats de typisation lymphocytaire. En effet, le pourcentage de lymphocytes T est très bas dans le sang des cordons, 3-4 fois plus bas que dans un sang d'adulte, ceci en confirmation des travaux de Christiansen et coll. (38), et de Campbell et coll. (37). Toutefois, dans les observations de ces derniers auteurs, la différence des pourcentages de cellules T entre mère et enfant est moins grande que celle rapportée ici. Nous avons dans quelques cas isolé des lymphocytes T foetaux et observé que leur capacité de répondre à Con-A ou à la PHA est parfaitement normale.

D'autre part, nous avons noté, confirmant les résultats d'autres auteurs (38, 51), un pourcentage quelque peu augmenté de lymphocytes B, ceci par rapport aux sujets témoins. En revanche, le pourcentage des lymphocytes B maternels est diminué d'une manière significative par rapport aux témoins. Ceci pourrait indiquer que l'état de dépression immunitaire de la grossesse n'implique pas seulement l'immunité à médiation cellulaire, mais également la capacité de synthétiser des anticorps.

Enfin, nous avons été frappés par le pourcentage élevé de cellules "null" variant de 20 à 36 %. Afin d'être certains qu'il ne s'agissait pas de cellules monocytaires, nous avons dans quelques cas pratiqué la typisation lymphocytaire après incubation pour 4 heures, en plaque de Petri. Nous avons pu montrer qu'il s'agissait bien de lymphocytes, mais qui ne possèdent pas les marqueurs appliqués, probablement de cellules immatures.

En dehors de ses applications dans l'histocompatibilité tissulaire, la culture lymphocytaire mixte est une technique simple, permettant d'apprécier la réactivité lymphocytaire. Kasakura (43) avait montré une diminution particulièrement marquée de la réactivité lymphocytaire mère-nouveau-né par rapport à la réponse obtenue avec les cellules d'un donneur non apparenté. D'autre part, le serum de femme gravide bloquait presque complètement cette réactivité, ce que n'était pas capable de faire un serum normal. Nous avons pu confirmer cette diminution de réactivité en MLC, de lymphocytes lavés et, de plus, nous avons noté que les lymphocytes de bébés traités à la Mitomycine C étaient incapables de stimuler les lymphocytes maternels. Utilisant des lymphocytes thymiques de nouveau-né, Olding et Oldstone (52) ont pu montrer que l'absence de réponse des lymphocytes maternels était bien due à un blocage complet de la capacité de division des lymphocytes maternels. On peut considérer que le sang du cordon est riche en cellules T du type suppresseur. En effet, récemment, Mosier et Johnson (53) ont montré que des thymocytes ou des cellules spléniques de souris nouveau-nés bloquaient la capacité de cellules spléniques adultes de développer une réponse immune in vitro. Ce mécanisme est probablement d'une très grande importance dans le phénomène de la tolérance foetale. En effet, malgré les contacts possibles des lymphocytes maternels et foetaux, l'activité des cellules T suppressors foetales rend les lymphocytes maternels incapables de répondre aux antigènes H-LA d'origine paternelle.

Les lymphocytes humains stimulés in vitro par des mitogènes ou des antigènes non seulement prolifèrent, mais aussi libèrent diverses lymphokines qui sont les véritables agents effecteurs de la réponse immune à médiation cellulaire.

Deux lymphokines ont été étudiées, soit le facteur inhibant la migration des leucocytes et le facteur mitogénique. Il est possible d'induire la production des lymphokines avec différents mitogènes, soit la PHA, le Pokeweed et la Concanavalin-A (54). Nous

avons choisi la Con-A liée au sepharose pour la raison suivante : nous avons utilisé le même surnageant riche en lymphokines pour y tester la présence des deux substances; il était donc particulièrement important de pouvoir éliminer l'agent mitogène, par centrifugation, pour l'interprétation des résultats. Ceux-ci montrent que les lymphocytes du cordon sont parfaitement capables de susciter la formation de lymphokines, en les comparant à des populations de cellules provenant de sujets normaux. Compte tenu du faible pourcentage de lymphocytes T présents dans le sang du cordon, il est probable que cette capacité fonctionnelle est supérieure à ce qui peut être observé avec des cellules adultes. Ces résultats confirmant les observations de Muller et coll. (36) mériteraient d'être repris en utilisant des populations de lymphocytes T purifiés. Enfin, il est possible que la capacité d'induire la production de lymphokines n'atteigne pas le même niveau pour tous ces facteurs. En effet, Campbell et coll. (37) ont montré que la cytotoxicité des lymphocytes du cordon vis-à-vis des cellules Chang, induite par la PHA, était extrêmement faible. Il est donc probable que d'autres potentialités fonctionnelles, dont la production de lymphotoxines, n'apparaîtront qu'avec la maturation des nombreuses cellules "null" observées.

Nous avons noté en revanche une capacité nettement diminuée des lymphocytes maternels de produire du MF. Cette observation est curieuse, compte tenu de la réponse normale de ces cellules aux mitogènes Con-A et PHA. La seule explication que nous pouvons en fournir est que les cellules qui répondent à la stimulation aux mitogènes ne sont pas les mêmes que celles qui synthétisent le facteur mitogénique. Cette ségrégation des cellules T maternelles pourrait éventuellement résulter de l'effet du facteur bloquant sérique, lequel pourrait agir avec différentes spécificités sur les sous-populations lymphocytaires T maternelles. Cette hypothèse semble trouver confirmation dans les résultats concernant la culture de cellules lymphocytaires normales, en présence de PHA et de sera des

mères et des bébés (43).

En effet, alors que les séras des bébés ne modifient nullement la réponse à la PHA, cette dernière est nettement diminuée en présence du sérum des mères. Le facteur sérique bloquant (43) est donc encore présent chez la plupart des mères. S'il bloque la réponse à la PHA, cette inhibition est réversible puisque, comme nous l'avons montré précédemment, les lymphocytes maternels, lavés, répondent normalement à la PHA et Con-A.

En revanche, on peut admettre que ce facteur modifie sélectivement certaines sous-populations de lymphocytes T, responsables en particulier de la production de certaines lymphokines. Toutefois, considérant le bouleversement biologique de la grossesse, avec entre autres, une augmentation considérable des corticostéroïdes circulants, des oestrogènes, de l' α -foeto-protéine, on ne peut exclure d'autres facteurs ou la collusion de plusieurs facteurs dans l'éventuelle modification des sous-populations lymphocytaires T maternelles. Enfin, l'isolement du facteur lymphocytaire du nouveau-né, capable de bloquer la division des lymphocytes maternels, fournirait peut-être une réponse à cette question.

Il était intéressant à ce point de voir quelles pouvaient être les relations entre le pourcentage des lymphocytes B des mères et des nouveau-nés. Nos résultats montrent un taux plus élevé d'IgG dans le sang du cordon que dans le sérum maternel, confirmant les résultats rapportés par Bryan et coll. (55). Il s'agit d'IgG acquises par passage placentaire (56). Les IgM et IgA sont mesurables, à des taux très bas, dans presque tous les sangs du cordon, démontrant par là une certaine capacité fonctionnelle des lymphocytes B des nouveau-nés et confirmant la réalité d'une stimulation antigénique in utero. En revanche, chez les mères, les taux sériques d'IgA et IgM sont abaissés par rapport à un groupe témoin de femmes non gravides, appartenant à la même classe d'âge. Ceci est peut-

être à mettre en relation avec le pourcentage bas des lymphocytes B observés dans le groupe des mères. Ces observations suggèrent que l'état de tolérance foetale par la femme gravide est dû non seulement à un freinage de l'immunité à médiation cellulaire, mais aussi à une dépression sélective de l'immunité humorale.

Enfin, un taux très bas d'IgE a été noté dans près de la moitié des sangs du cordon. Les taux sériques maternels étaient tous dans des limites normales. Il n'y avait aucune relation visible entre les taux maternels et ceux des cordons qui étaient positifs (Table V).

RESUME ET CONCLUSION

Cette étude a porté sur l'analyse de propriétés immunologiques des lymphocytes provenant de 20 mères et de sang du cordon, tous deux prélevés au moment de l'accouchement.

Les observations faites peuvent se résumer de la manière suivante :

- En stimulation lymphocytaire in vitro, un pourcentage élevé des cellules du cordon répondent à une stimulation antigénique, les antigènes étant la tuberculine, la streptokinase-streptodornase, *Candida alb.* et les lipopolysaccharides de *E-Coli*. Une concordance satisfaisante est observée avec les résultats des lymphocytes maternels, suggérant une transmission trans-placentaire du message antigénique.
- Les lymphocytes maternels lavés répondent normalement in vitro aux agents mitogènes tels que la PHA et Con-A. En revanche, les lymphocytes du nouveau-né ne sont que faiblement stimulables par ces mêmes agents.

- Le pourcentage très bas des lymphocytes T dans le sang du cordon fournit probablement une explication à ce phénomène. En effet, une réponse normale est observée lorsqu'une population lymphocytaire T purifiée est utilisée. Les lymphocytes B sont légèrement augmentés chez le nouveau-né. En revanche, ils sont abaissés dans le sang des mères.
- En MLC, les lymphocytes du nouveau-né inhibent la division des lymphocytes maternels, ceci en l'absence de facteurs sériques. Cette inhibition n'apparaît pas avec des lymphocytes de donneurs non apparentés.
- Les lymphocytes du nouveau-né sont capables de synthétiser normalement les lymphokines LIF et LMF. En revanche, les cellules maternelles présentent à cet égard une discrédance. Elles sont capables de susciter la formation de LIF, mais ne synthétisent que peu de MF.
- Les sera du cordon n'inhibent pas la stimulation à la PHA de lymphocytes provenant de donneurs normaux. En revanche, les sera des mères renferment un facteur inhibiteur de l'action stimulante de la PHA.
- Les immunoglobulines foetales sont faites surtout d'IgG, le taux en est légèrement supérieur aux taux sériques maternels. Les IgA et IgM étaient mesurables dans tous les sangs du cordon. Chez les mères, ces deux immunoglobulines étaient nettement abaissées par rapport aux résultats d'un groupe témoin.

Ces différents résultats suggèrent une capacité fonctionnelle normale des lymphocytes T, effecteurs de l'immunité cellulaire chez le nouveau-né. On sait que chez ce dernier une greffe de peau est rejetée dans les mêmes délais que chez l'enfant plus grand (57). De plus, il est possible de vacciner un nouveau-né au BCG, sans risque. En revanche, on sait que l'immunité humorale est presque totalement immature à la naissance et que la totalité des

défenses humorales est assurée par les IgG maternelles qui traversent le placenta.

Ce phénomène de la maturité de l'appareil immunitaire est d'autant plus intéressant à relever que chez la mère, au contraire, un état de dépression immunitaire, persistant jusqu'à la naissance, se développe dès le début de la grossesse (58, 1). Il existe un ou plusieurs facteurs sériques maternels capables de bloquer les récepteurs lymphocytaires maternels, mais aussi un facteur lymphocytaire présent chez le nouveau-né, lequel, en l'absence de serum, inhibe la division cellulaire lymphocytaire.

Ainsi, au cours de la grossesse, se développent des interrelations entre système immunologique maternel et système immunologique foetal, avec développement de mécanismes de contrôle qui empêchent les agressions réciproques, du type greffe contre l'hôte ou effet des anticorps HL-A. Très rapidement, dès la naissance, ces mécanismes de contrôle disparaissent (10, 27) et la mère retrouve une capacité immunitaire normale.

TABLE I

Types d'infections virales et bactériennes rencontrées le plus fréquemment pendant la période de gestation (ad. 40ème semaine)

Maladies	Périodes d'infection (semaines)
Rubéole	10 - 32
Cytomégalo virus	10 - 38
Herpes simplex	10 - 44
Toxoplasmose	10 - 36
Virus coxsackie B	10 - 45
Varicelle	10 - 42
Malaria	15 - 38
Syphilis	40
Gonocoque	30 - 40
Streptocoque hémol.	32
Listeria	32 - 40
E. Coli	32 - 45
Candida alb.	35 - 45

TABLE IIFacteurs prédisposants aux infections du fœtus et nouveau-né

I. Durant la vie fœtale

- Infection maternelle massive, amnionite
- Fièvre maternelle prolongée
- Rupture prolongée des membranes
- Hygiène maternelle insuffisante
- Maladies vénériennes non traitées
- Diabète
- Prématurité

II. Chez le nouveau-né

- Anomalies congénitales
 - Maladies sous-jacentes
 - Plaies cutanées
 - Transmission exogène (personnel hosp.)
-

TABLE III

Chronologie du développement des immunoglobulines chez le
foetus humain

<u>Ig de membranes</u>	<u>Ig intracytoplasmiques</u>	<u>Ig viscérales et</u> <u>Ig humorales</u>
IgM : foie 9ème sem. IgG et 11ème sem. IgA Toutes classes : rate dès la 14ème sem.	IgM puis IgG puis IgA : 15ème sem.	IgM : rate 10ème sem. IgG : rate 12ème sem. IgE: poumon 11ème sem. rate 21ème sem. Chaînes lourdes alpha dans serum foetal : 11ème sem.

TABLE IV

Culture mixte lymphocytaire comportant les couples mère/cordon traités ou non à la mitomycine C ainsi que les cellules maternelles et du cordon avec un donneur non apparenté

	M + B	M + C	B + C	Mm + B	M + Bm
1	3028	9230	6158	1691	279
2	4954	6611	4256	2754	345
3	3717	11612	7315	2279	305
4	2249	8300	5016	1486	156
5	3611	5700	3914	1820	286
6	2717	5481	6352	1165	327
7	3273	10600	5312	2890	186
8	1270	3540	4400	1850	250
9	4305	9030	2600	3112	415
10	1984	5206	4073	2616	274
Moyennes		3110 ± 1107		2166 ± 657	282 ± 74

TABLE V

Dosage des immunoglobulines maternelles et du cordon

<u>Ig</u>	<u>Mère</u> : mg % $\pm$ 1SD	<u>Cordon</u> : mg % $\pm$ 1SD
IgG	753 $\pm$ 430	844 $\pm$ 403
IgM	94 $\pm$ 56	14 $\pm$ 36
IgA	203 $\pm$ 78	2 - 10 mg (6 cas)
IgE	119 $\pm$ 62 u.i./ml	+ dans 3 cas

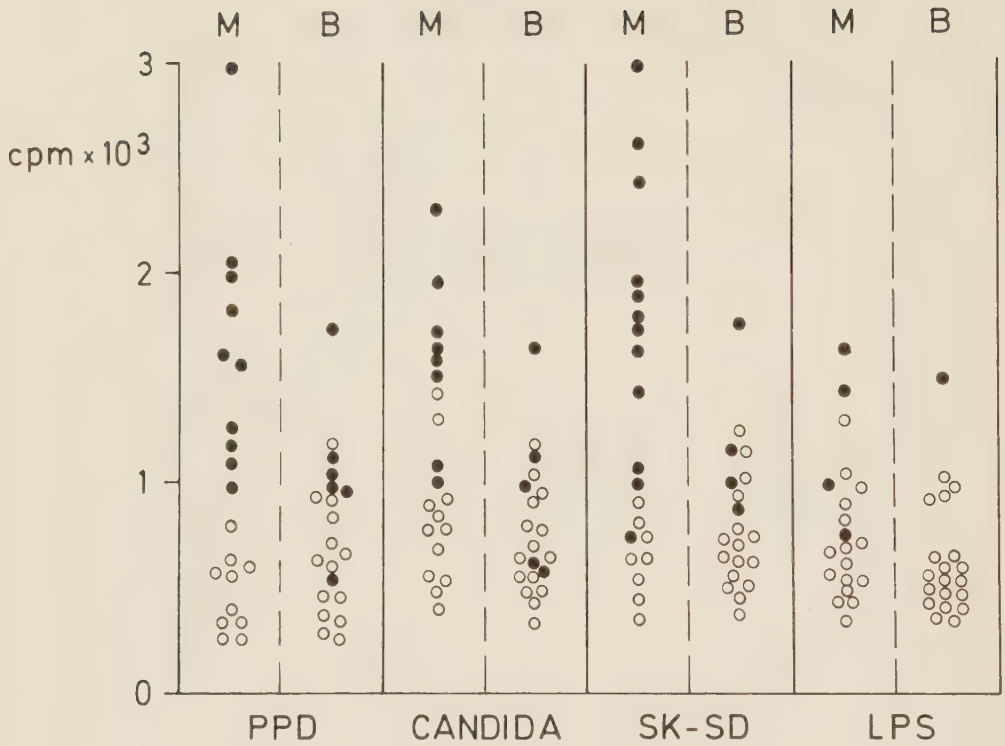


Figure 1 : Résultat des stimulations lymphocytaires de lymphocytes maternels (M) et du cordon (B), stimulés au moyen de 3 antigènes thymo-dépendants et d'endotoxines de E. Coli (LPS). Les points noirs indiquent une réponse positive (rapport $\geq 1,5$)

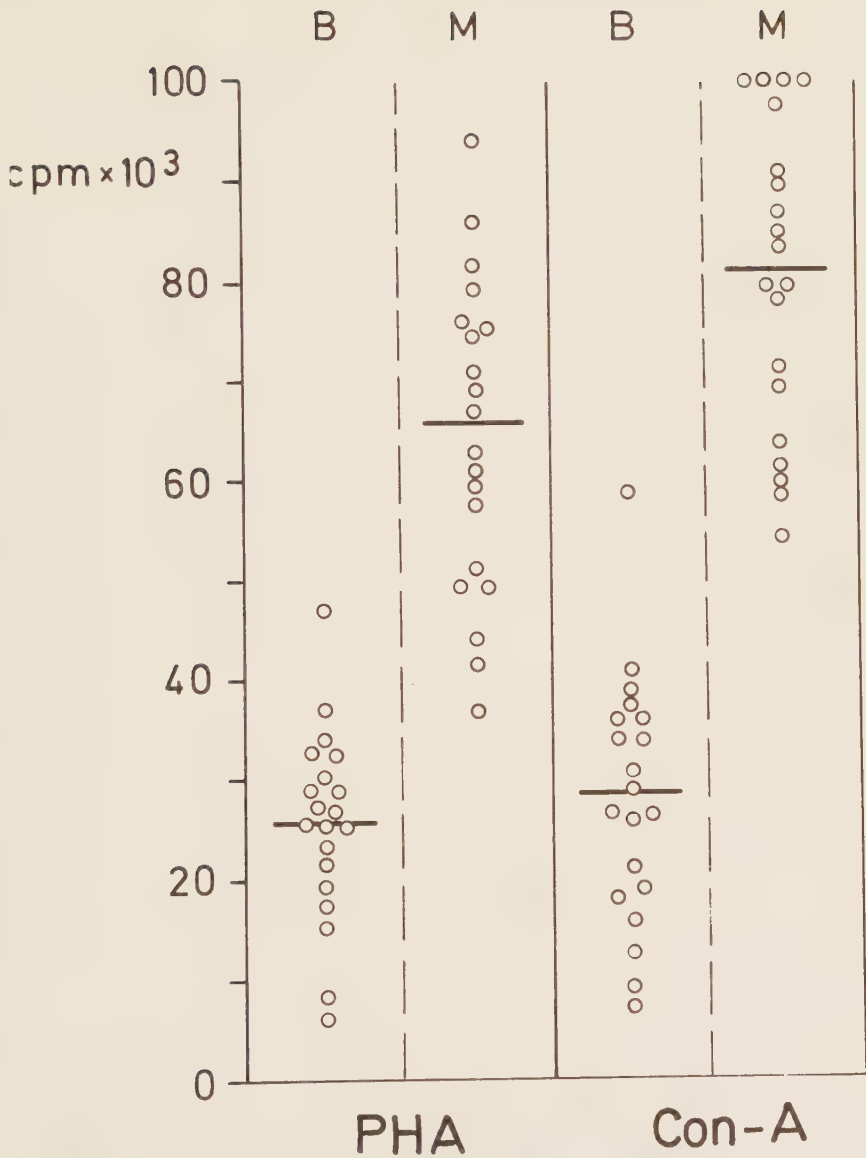


Figure 2 : Réponse in vitro des lymphocytes maternels (M) et du cordon (B) à la PHA et Con-A

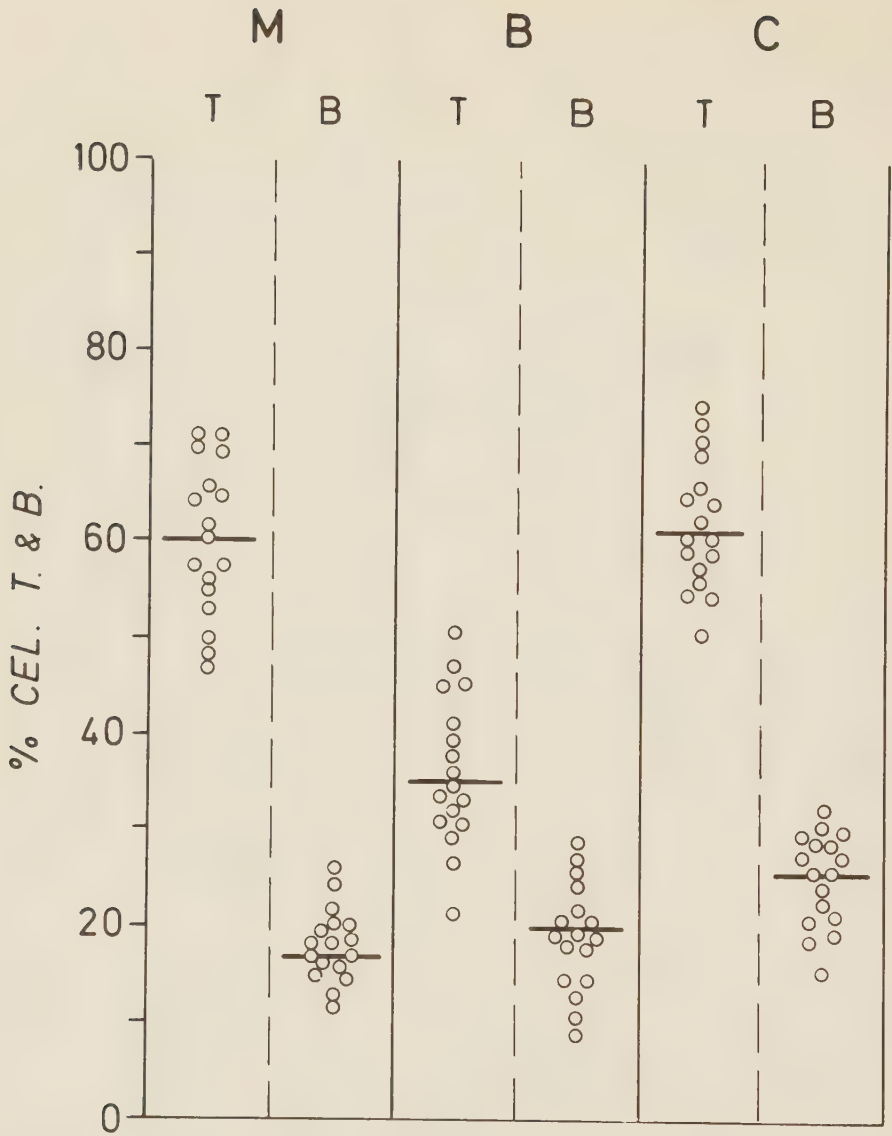


Figure 3 : Pourcentage des lymphocytes T et B dans les sangs maternels (M), du cordon (B) et d'un groupe témoin adulte (C)

PRODUCTION LIF.

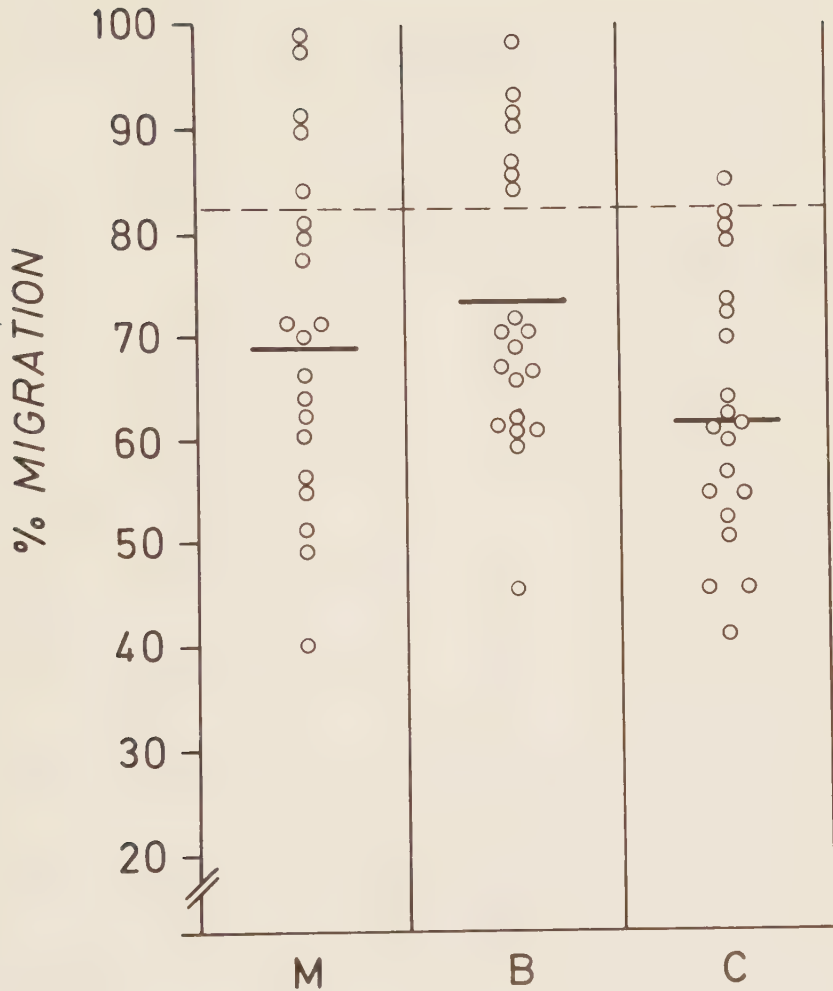


Figure 4 : Etude de la formation du facteur inhibiteur de la migration des leucocytes (LIF) par les lymphocytes maternels (M), du cordon (B) et d'un groupe contrôle (C); agent stimulateur : Con-A sepharose

PRODUCTION LMF

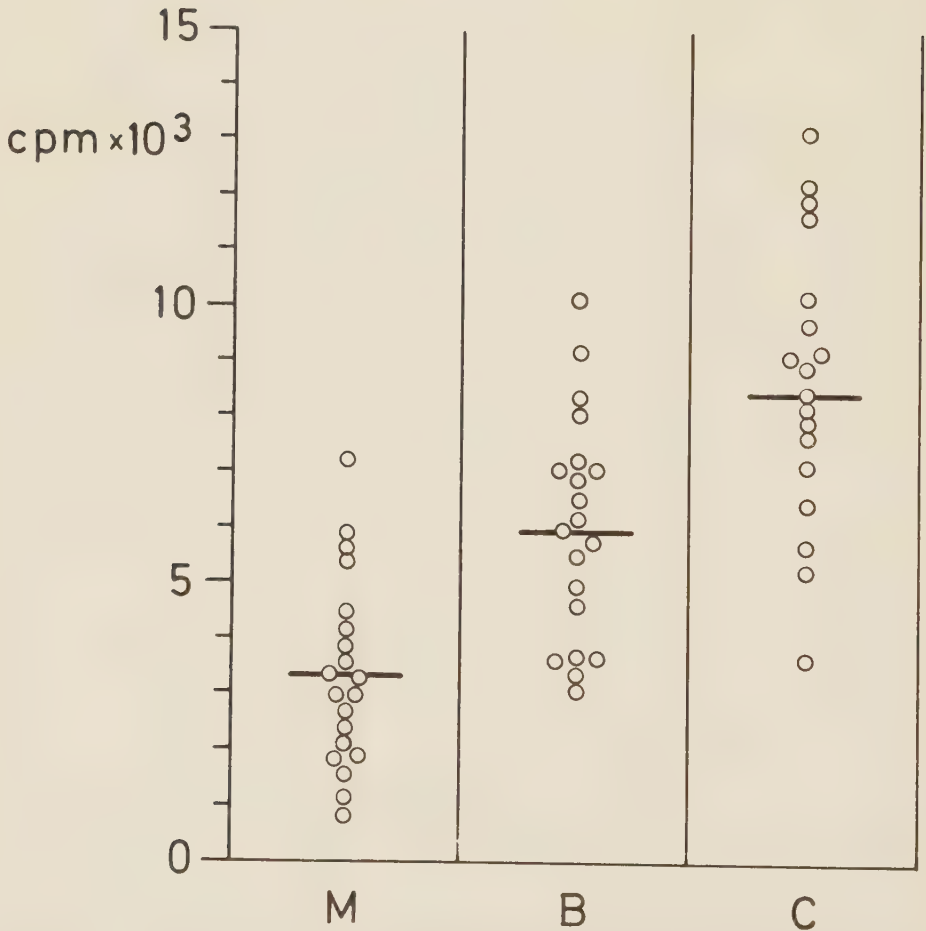


Figure 5 : Production du facteur mitogénique leucocytaire par les cellules lymphocytaires maternelles (M), du cordon (B) et d'un groupe témoin (C)

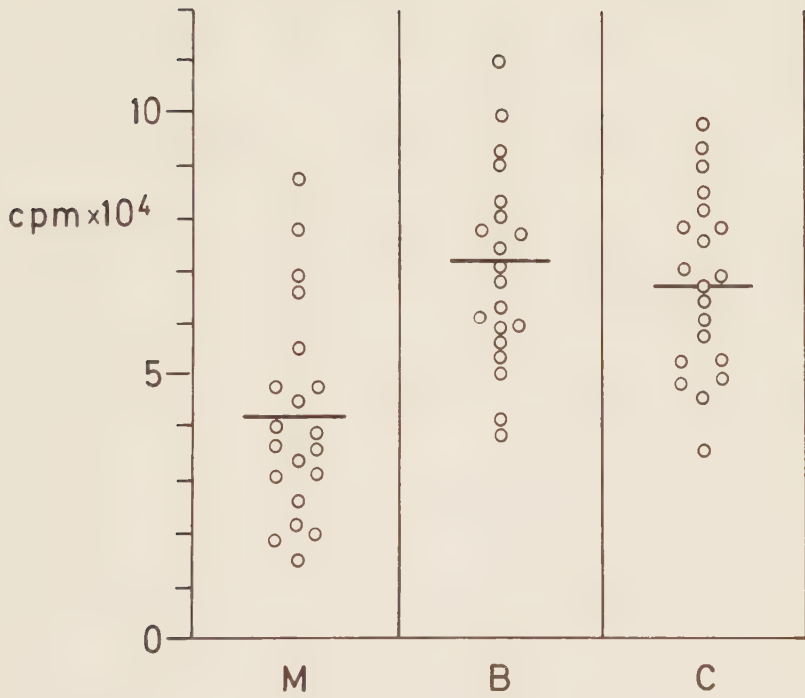


Figure 6 : Effet de sera des mères et du cordon sur la réponse à la PHA de lymphocytes provenant de donneurs normaux

BIBLIOGRAPHIE

1. H. E. EVANS AND GLASS L. : In "Perinatal Medicine", Mechanism of infection, p. 340. Harpers & Row, New York, 1976.
2. ALFORD C. A. : A correlative immunologic, microbiologic and clinical approach to the diagnosis of acute and chronic infections in newborn infants. N. Engl. J. Med. 277, 437, 1967.
3. ALLANSMITH M., MCCLELLAN B. H., BUTTERWORTH M. AND MALONEY J. R. : The development of immunoglobulin levels in man. J. Pediatr. 72, 276, 1969.
4. DOELLANDER A. ET FERNART R. : Eléments d'embryologie. II organogénèse. Flammarion, Paris, 1976.
5. GOWANS J. L. : Differentiation of the cells which synthesize the immunoglobulins. Ann. Immunol. 1252, 201, 1974.
6. METCALF D. AND MOORE M. A. J. : Hematopoietic cells : their origin, migration and differentiation. North Holland, Amsterdam, 1971.
7. TURCAS A., SIMU G. AND NESTOR D. : Les tissus lymphoreticulaires du foetus dans des conditions pathologiques. J. Gynec. Obstet. Biol. Reprod. 3, 647, 1974.
8. PRINDULL G. : Maturation of cellular and humoral immunity during human embryonic development. Acta Ped. Scand. 63, 607, 1974.
9. WEBER T. H., SANTERSON B. AND SKOOG W. T. : The activation of foetal lymphocytes. Scand. J. Haematol. 11, 177, 1973.
10. CARR M. C., STITES D. P. AND FUDENBERG H. H. : Cellular immune aspect of the human foetal maternal relationship. Cell. Immunol. 11, 332, 1974.

11. STITES D. P., CARR M. C. AND FUDENBERG H. H. : Ontogeny of cellular immunity in man. *Birth defects*. 11, 489, 1975.
12. CARR M. C., STITES D. P. AND FUDENBERG H. H. : Dissociation of response to PHA and adult allogenic lymphocytes in human fetal lymphoid tissues. *Nature New Biol* 241, 279, 1973.
13. KAY H. E. M. : Fetal thymus transplantation in men. In Ciba "Foundation Symposium", ontogeny of acquired immunity, pp. 249. London, Elsevier, 1972.
14. WIBRAN J., CARR M. C. AND FUDENBERG H. H. : The human rosette forming cells on a marker of a population of thymus derived cells. *J. Clin. Invest.* 51, 2537, 1972.
15. Maturation organique et fonctionnelle du foetus. O.M.S. Rapport technique No 540, 1974, Genève.
16. LAWTON A. R., SELF K. S., ROYAL S. A., AND COOPER M. D. : Ontogeny of B-lymphocytes in the human fetus. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1, 84, 1972.
17. SCHRODER J. AND LA CHAPPELLE A. : Total lymphocytes in the maternal blood. *Blood*. 39, 153, 1972.
18. MILLET D. L., HURVONNEN T. AND GITLIN D. : Synthesis of IgE by the human conceptus. *J. Allergy Clin. Immunol.* 52, 182, 1973.
19. CEDERQWIST L. L. AND LITWIN S. D. : Production of α -1 and α -2 immunoglobulin heavy chains during fetal life. *J. Immunol.* 112, 1605, 1974.
20. KOHLER P. F. : Maturation of the human complement system. Onset time and sites of fetal C_{19} , C_4 , C_3 and C_5 - synthesis. *J. Clin. Invest.* 52, 671, 1973.
21. STEJKAL R., LILL P. H. AND DAVIDSON I. : A. B. and H isoantigens in the human fetus. *Develop. Biol.* 34, 274, 1973.

22. MATTINZ P. L., MASSOBRID M. AND RICHIARDU P. : Espressione degli antigeni del sistema HLA sulle cellule fetali. *Minerva Ginec.* 25, 8, 1975.
23. BONNARD G. D. : Immunisation de la femme enceinte par les antigènes de transplantation HLA du fœtus. *Schweiz. Z. Gynec.* 2, 297, 1971.
24. ASANTILA T., SORVARI T., HIRVONNEN T. AND TORVANEN P. : Xenogenic reactivity of human fetal lymphocytes. *J. Immunol.* 111, 984, 1973.
25. FINN R., MILL C. A. S. AND GOMAN A. J. : Immunological response in pregnancy and survival of fetal homograft. *Brit. Med. J.* 3, 150, 1972.
26. OLDING L. B., BENIRSCHKE K. AND OLDSTONE M. B. A. : Inhibition of mitosis of lymphocytes from human adults by lymphocytes from human newborns. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 3, 79, 1974.
27. HAYWARD A. R. : Development of the immune response. *Clin. Allergy.* 3, 559, 1973.
28. HAYWARD A. R. AND EZER G. : Development of lymphocytes populations in the human fetal thymus and spleen. *Clin. Exp. Immunol.* 17, 169, 1974.
29. VIVELL O. : Die Immunoglobuline in den ersten Lebernsjahren. *Arch. Kinderheilk.* 181, 211, 1976.
30. SZABO M. A., SEGAL S. AND ROSS L. M. : Immunoglobulin G and M in newborn cord serum. *Israel J. Med. Sci.* 10, 738, 1974.
31. STOSSEL T. P., ALPER C. A. AND ROSEN F. S. : Opsinin activity in the newborn. *Pediatrics.* 52, 134, 1973.
32. ZULLI P. AND NUBILE G. : Le IgD nel sangue del feto umano a termine. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* 49, 686, 1973.

33. YU V. Y. H., MACTENNAN I. C. M. AND BAUM J. D. : Lymphocyte reactivity in pregnant women and newborn infants. *Brit. Med. J.* 1, 428, 1975.
34. WEBER T. H., SANTERSON B. AND SKOOG V. T. : The activation of fetal lymphocytes. *Scand. J. Haematol.* 11, 177, 1973.
35. HASHEM N. : Is maternal lymphocyte sensitization passed to child. *Lancet* I, 40, 1972.
36. MULLER M. R., LAZARY S. AND HITZIG W. H. : Production of migration inhibitory factor and blast cell transformation by cord blood lymphocytes. *Int. Arch. Allergy*, 50, 593, 1976.
37. CAMPBELL A. L., WALLER C., WOOD J. AND AYNLEY-GREEN A. : Lymphocyte sub-populations in the blood of newborn infants. *Clin. Exp. Immunol.* 18, 469, 1974.
38. CHRISTIANSSON J. S., OSTHER K., PEITERSEN B. AND BACH MORTENSEN N. : B, T and null lymphocytes in newborn infants and their mothers. *Acta Paediatr. Scand.* 65, 425, 1976.
39. EIFE R. F., EIFE G., AUGUST C. S., KUHRE W. L. AND STAEHR-JOHANSEN K. : Lymphotoxin production and blast cell transformation by cord blood lymphocytes. *Cell. Immunol.* 14, 435, 1974.
40. GIRARD J. P., CATTIN S. AND CUEVAS M. : Immunological mechanism and diagnostic tests in allergic drug reactions. *Ann. Clin. Res.* 8, 74, 1976.
41. JONDAL L., HOLM G. AND WIGZELL H. : Surface markers on human T and B Lymphocytes. *J. Exp. Med.* 136, 207, 1972.
42. PAPAMICHEL M., HOLBOROW E. J., KEITH H. I. AND AVERY H. L. F. : Sub-populations of human peripheral blood lymphocytes. *Lancet* 2, 64, 1972.

43. KASAKURA S. : A factor in maternal plasma during pregnancy that suppress the reactivity of mixed leucocytes cultures.
J. Immunol. 107, 1296, 1971.
44. ROCKLIN R. E., MACDERMOTT R. P., CHESS L., SCHLOSSMAN S. F. AND DAVID J. R. : Studies on mediator production by highly purified human T and B lymphocytes. J. Exp. Med. 140, 1303, 1974.
45. SOOTHILL J. F., HAYES K., DUDGEON J. A. : The Immunoglobulins in congenital rubella. Lancet I, 1385, 1966.
46. FIELD E. J., CASPARY E. A. AND SMITH J. K. : Lymphocyte reactivity to antigen in pregnancy. Am. J. Obstet. Gynec. 113, 602, 1972.
47. BARNES R. S. C., BJUNE G. AND DUNCAN M. E. : Evidence for a soluble factor in the transplacental transmission of T-lymphocyte response to mycobacterium lepral. Nature, 260, 150, 1976.
48. MULLER M. R. : In vitro functions of cord blood lymphocytes. II Biologic activity of transfer factor. Thèse de doctorat en Médecine, Zürich, 1976.
49. THIEDE H. A., CHOATE J. W. AND DYZE S. : Pregnancy and the lymphocyte. Am. J. Obstetric and Gynecol. 102, 642, 1976.
50. PAPIERNIK M. : Comparison of human fetal with child blood lymphocytic kinetics. Biol. Neonate, 19, 163, 1971.
51. CLEMENTS P. J., YU D. T., LEVY J. AND PEARSON C. M. : Human lymphocyte sub-populations. The effect of pregnancy. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 152, 664, 1976.
52. OLDING L. B. AND OLDSTONE B. A. : Thymus derived peripheral lymphocytes from human newborns inhibit division of their mothers lymphocytes. J. Immunol. 116, 682, 1976.

53. MOSIER D. E., JOHNSON B. M. : Mitegeny of mouse lymphocyte functions. Development of the ability to produce antibody is modulated by T-lymphocytes. J. Exp. Med. 141, 216, 1975.
54. TURK J. L. : Immunology in clinical medicine. Heinemann, London, 1972, 2nd ed.
55. BRYAN E. M., SLAVIN B. AND NICHOLSON E. : Serum immunoglobulins in multiple pregnancy. Arch. Dis. Child. 51, 354, 1976.
56. BERG T. : Immunoglobulins in infants with low birth weights. Acta Ped. Scand. 57, 369, 1968.
57. JONES W. R. : Fetal and neonatal immunology. In "Immunology of human reproduction". J. W. Scott and W. R. Jones edit. pp. 127, Academic Press, London, 1976.
53. HILL St., FINN R. AND DENYE V. : Depression of cellular immunity in pregnancy due to a serum factor. Brit. J. Med. 3, 513, 1973.

